除草剂对不同种植年限柑橘园土壤氮转化过程及温室气体排放的影响

郑祥洲[(1)];王亚萨[(1,2)];张玉树[(1)];张晶[(1)];丁洪[(1)]

(1). 福建省农业科学院土壤肥料研究所　福州　350013; (2). 福建农林大学资源与环境学院　福州　350002

摘　要: 为探讨除草剂施用对柑橘园土壤氮转化及温室气体排放的影响，在实验室培养条件下，研究了 0 年(林地)、种植 10 年和 30 年的柑橘园土壤中分别添加除草剂草甘膦和丁草胺后，尿素态氮含量、硝化和反硝化作用以及温室气体排放的变化。研究结果表明，橘园土壤中的尿素第 1d 的水解率、氮肥硝化率、反硝化作用损失总量以及 N_2O 和 CO_2 排放量显著高于林地土壤(P<0.05)。与 10 年橘园土壤相比，30 年橘园土壤显著增加了尿素的水解速率、氮肥硝化率和 CO_2 排放量(P<0.05)，但二者的反硝化损失量没有显著差异。施用草甘膦和丁草胺都显著促进了林地土壤的尿素水解(P<0.05)，但对 3 种土壤氮肥的硝化率均没有明显影响。施用丁草胺显著降低了林地土壤的 CO_2 排放量(P<0.05)，对两种橘园土壤的 CO_2 排放没有明显影响，但明显增加了两种橘园土壤的 N_2O 排放总量(P<0.05)，分别比不施除草剂增加了 56.27% 和 85.41%；施用草甘膦对 3 种土壤的 N_2O 和 CO_2 排放均没有明显影响。可见，草甘膦和丁草胺的施用不会对柑橘园土壤的氮转化过程产生影响，但丁草胺显著增加了柑橘园土壤的 N_2O 排放。

关键词: 丁草胺；草甘膦；氮肥；橘园土壤；氮转化；温室气体

中图分类号: S154.1　　**文献标志码:** A

Effects of herbicide on transformation of urea nitrogen and greenhouse gas emission in different planting years orchard soil*

ZHENG Xiangzhou[1], WANG Yasa[1,2], ZHANG Yushu[1], ZHANG Jing[1], DING Hong[1]**

(1. Institute of Soil and Fertilizer, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China; 2. College of Resource and Environment, Fujian Agriculture and Forest University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Soil microbes have significant influences on transformation and fate of nitrogen in soils by participating in the processes of biology and biochemistry in soil nitrogen cycle. Research has shown that herbicides may inhibit non-target soil microbes and their biochemical processes. Therefore, herbicides produced great effectives on the uptake and utilization by plant and environmental release of nitrogen from soils. This experiment aimed to explore the effects of herbicide on transformation of urea nitrogen and greenhouse gas emissions in different planting year’s orchard soil, it is helpful to evaluate the environmental safety of herbicide and nitrogen application in orchard soil. An two factors three levels Complete experiment (Herbicide factors include no herbicides, glyphosate (10 mg ⋅kg^{-1} a.i.)and butachlor(10 mg ⋅kg^{-1} a.i.), planting year factors include 0 years (woodland), 10 years and 30years citrus orchard) was conducted under laboratory condition, and 200 mg(N) ⋅kg^{-1} dry soil urea were applied in each treatments respectively. The result showed that the Urea hydrolysis rate, nitrification rates, denitrification loss and green house gas emission of citrus orchard (10 and 30 years) were higher than the woodland (P < 0.05). Compare with woodland soil, the total denitrification loss increased by 5.12 and 4.30 times; the total N_2O emission increased by 7.80 and 2.74 times; the total CO_2 emission increased by 19.62% and 39.64%, respectively. The Urea hydrolysis rate, nitrification rates and CO_2 emission in 30 years citrus orchard were significantly greater than the 10 years. Compare with 10 years citrus orchard soil, the total CO_2 emission in 30 years increased by 16.74%, but the total denitrification loss were no difference between 2 citrus orchard soils. Glyphosate and butachlor had significant boost the urea hydrolysis in woodland, but had no effect on soil nitrification in 3 soils. The butachlor had significant negative effect on woodland CO_2 emission, but show no effect on citrus orchard soil. Compare with no herbicide treatment, the butachlor had significant boost the N_2O emission 56.27% and 85.41% respectively (P < 0.05), in 2 citrus orchard soil. The glyphosate no effect on soil total CO_2 and N_2O emission in 3 soil. The glyphosate had no significant effects on nitrogen transformation and greenhouse gas emission in citrus orchard soil, but butachlor had significant boost the N_2O emission in citrus orchard soil.

Keywords: Butachlor; Glyphosate; Nitrogen fertilizer; Citrus orchard soil; Nitrogen transformation; Greenhouse gas

* 福建省自然科学基金项目(2015J01111, 2015J01159)、国家自然科学基金项目(31270556)和福建省公益类科研院所专项(2016R1021-4)资助
**通信作者: 丁洪，主要从氮素生物地球化学循环研究。E-mail: hongding@China.com
郑祥洲，主要从氮素生物地球化学循环研究。E-mail: z85103@163.com
收稿日期: 2017-07-20　接受日期: 2017-09-30
* This study was supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (2015J01111, 2015J01159), the National Natural Science Foundation of China (31270556) and the Special Fund for Public Welfare Research Institute of Fujian Province (2016R1021-4).
Received Jul. 20, 2017; accepted Sep. 30, 2017

氮肥和除草剂在农业生产上施用大大提高了作物产量，保障了世界粮食的安全。特别是近些年来，随着农村劳动人口的转移，劳动力成本不断上升，化学除草剂的施用量也明显增加。自 1980 年以来，全国化学除草面积以年增 200 万 hm^2 的速度扩大[1]。施用除草剂在防除田间杂草的同时，也会对非目标物如土壤微生物、土壤酶活等产生一定的影响[2-3]。氮肥的有效性与其在土壤中的转化过程有关，而这些转化过程又受到土壤微生物和酶的影响和调节。已有研究表明，除草剂的施用对农田土壤氮转化相关的微生物和土壤酶活性会产生影响[4]，并影响到土壤中氮素的转化过程[5-6]，进而影响到氮肥的生物有效性和利用率。笔者前期的研究也表明，除草剂对菜园土壤中尿素态氮的转化和温室气体排放过程有一定影响，而且不同除草剂品种的效应有明显差异[7-8]。

然而，目前国内外关于除草剂对土壤氮转化过程及温室气体排放的影响研究多集中在农田土壤上[9]，对果园土壤的影响则鲜见报道。果树作为我国重要的经济作物, 2015年全国种植面积高达1 281.7万hm^2 [10]。不同于一般农作物，果树树龄长，根系在土壤中延伸空间大，多年大量使用无机化肥，以及覆盖状况的差异。因此和农田土壤相比，果园土壤其养分状况、物理结构[11]、有机碳氮的组分以及微生物功能活性[12]都存在较大差异，对除草剂施用的响应自然也不相同。明确除草剂和种植年限对果园土壤氮素转化和温室气体排放的过程，对于指导除草剂和氮素施用具有重要的参考意义。因此，本文选择亚热带地区的不同种植年限柑橘园土壤作为研究对象，探讨除草剂施用对土壤氮转化及温室气体排放过程的影响，为评价南方柑橘园除草剂的施用效应和合理施肥施药、减少环境污染提供参考。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试土壤取自福建省泉州市永春县桃城镇柑橘园(北纬25°22′15″~25°23′20″，东经118°19′39″~118°20′36″)。为了避开施肥的影响，土壤样品于2015年5月采集(与施肥时间间隔2个月以上)。在同一区域内选择未种植柑橘的灌木林地土壤(以下简称林地)、种植10年和30年的橘园土壤。采样点的坡向和坡度基本一致。每个橘园随机选择10棵树为一个重复，在每棵树树冠下以树干为圆心、不同半径圆周上随机采集6个子样点，共60个子样点混合成一个土样。灌木林以200~300 m^2范围作为1个取样点，每个取样点随机取60个子样点混合成一个土样。取样深度为0~20 cm，取样前先去除表层枯枝落叶层。土壤样品采集后分为两份，一份风干后用于基础理化性质测定，另一份经微风干后过2 mm筛，用于进行培养试验。供试土壤的理化性质见表1。

表1　不同年限橘园土壤的理化性质

Table 1　Soil properties of different Planting years citrus orchard

橘园种植年限 Planting years of citrus orchard (a)	pH	全氮 Total N ($g\cdot kg^{-1}$)	有机质 Organic matter ($g\cdot kg^{-1}$)	铵态氮 Ammonium nitrogen ($mg\cdot kg^{-1}$)	硝态氮 Nitrate nitrogen ($mg\cdot kg^{-1}$)
0 (林地 Woodland)	4.87	0.52	6.1	29.33	14.89
10	3.57	1.43	18.7	31.81	74.30
30	3.67	1.96	37.1	5.03	45.76

试验选用的除草剂为有效成分30%的草甘膦异丙胺盐水剂(四会市润土作物科学有限公司生产)和有效成分60%的丁草胺乳液(山东侨昌化学有限公司生产)。氮肥为含氮量46%的尿素(上海国药集团化学试剂有限公司生产)。

1.2　试验设计

试验采用两因素三水平完全试验设计，主因素为种植年限，分别为林地、10年柑橘园和30年柑橘园；副因素为除草剂品种，分别为不施除草剂和施除草剂草甘膦和丁草胺；除草剂用量为10 mg(有效成分)·kg^{-1}(土)，所有处理均施用尿素200 mg(N)·kg^{-1}(土)。试验设计见表2。

表2　试验设计

Table 2　Experimental design

处理 Treatment	橘园种植年限 Planting years of citrus orchard (a)	除草剂种类和有效成分用量 Herbicide specie and application rate
T0-1	0 (林地 Woodland)	不施除草剂 No herbicide
T0-2		草甘膦 Glyphosate 10 mg(有效成分)·kg^{-1}(土)
T0-3		丁草胺 Butachlor 10 mg(有效成分)·kg^{-1}(土)
T10-1	10	不施除草剂 No herbicide
T10-2		草甘膦 Glyphosate 10 mg(有效成分)·kg^{-1}(土)

T10-3		丁草胺 Butachlor 10 mg(有效成分)·kg^{-1}(土)
T30-1	30	不施除草剂 No herbicide
T30-2		草甘膦 Glyphosate 10 mg(有效成分)·kg^{-1}(土)
T30-3		丁草胺 Butachlor 10 mg(有效成分)·kg^{-1}(土)

1.3 试验步骤

称取折合150 g干土的微风干土，装入300 mL广口瓶中。将氮肥和农药先按比例混合，溶于水后再定量加入广口瓶中，使土壤含水量达到田间最大持水量的60%。用封口膜封口，保持瓶内外自由通气，于28 ℃下恒温好气培养。

氮素动态变化及温室气体排放的测定：取样时间为培养的第1、3、5、8、12、18、24和33天，采用破坏性取样，每个处理每次取样设3个重复(即每次9个处理各取3瓶，取8次样，共216瓶)。在取样前24 h，用带有2根玻璃管的软木塞塞住瓶口，每根玻璃管分别接1段硅胶管，其中1根接上三通阀，然后密封2根通气管。24 h后，用注射器通过培养瓶上的三通阀将瓶中气体充分混匀，抽取20 mL瓶中气体用来测定温室气体CO_2和N_2O；然后将培养瓶中的土壤整瓶取出，充分混合均匀，测定土壤中的尿素态氮、铵态氮和硝态氮含量。

反硝化作用测定采用乙炔抑制法[13]：取样时间为培养的第3、5、8、12、18、24和33天，采用破坏性取样，每个处理每次取样设3个重复(即每次9个处理各取3瓶，取7次样，共189瓶)。于取样前24 h用带有2根玻璃管的软木塞塞住瓶口，每根玻璃管分别接1段硅胶管，其中1根连接三通阀，密封2根通气管。然后用注射器接上三通阀从培养瓶中抽出10%自由体积的空气，再回注等量纯净乙炔，使瓶中乙炔气体体积比达到10%，并混合均匀，以达到扩散均匀和抑制硝化作用以及N_2O还原酶活性的目的。24 h后，用注射器通过培养瓶上的三通阀将瓶中气体充分混匀，抽取20 mL瓶中气体测定反硝化作用产生的N_2O气体含量。

1.4 样品测定方法

土壤尿素态氮采用二乙酰一肟-硫代氨基脲法[14]测定，土壤铵态氮采用靛酚蓝比色法测定，土壤硝态氮采用紫外分光光度法测定[15]。N_2O、CO_2和反硝化产生的$N_2O(N_2O+N_2)$气体样品分析采用经中国科学院大气物理所改装、美国Agilent 公司生产的气相色谱仪GC7890A测定。

硝化率计算公式：Nr(%)=(Ct-C0)/C*100。Ct为t时土壤中硝态氮含量(mg ·kg^{-1})，C0为培养前土壤中硝态氮含量(mg ·kg^{-1})，C为试验开始总共投入的尿素氮肥的含量(mg ·kg^{-1})。

单位时间气体排放通量(反硝化速率、N_2O排放速率、CO_2排放速率)计算方法：

$$F[\mu g\cdot kg^{-1}\cdot h^{-1}]=C\times M/22.4\times V/W/T \qquad (1)$$

式中：F为反硝化产生的$N_2O(N_2O+N_2)$气体、温室气体N_2O和CO_2排放量，C为气体浓度测定值(μg·mL^{-1})，M为1 mol的气体质量，22.4为大气标准状态下阿伏伽德罗常数，V为培养瓶内总的自由体积(mL)，W为培养土壤重量(kg)，T为密闭培养的时间(h)。

总排放量计算方法：$F[(\mu g\cdot kg^{-1}(土)]=\sum(F_1+F_2)/2\times t\times 24$。$F_1$为前一次测定值，$F_2$为后一次测定值，t为相隔天数，24为每天小时数。

1.5 数据统计分析

试验数据统计分析及图表制作采用SPSS 13.0和Excel 2003软件进行。

2 结果与分析

2.1 除草剂对不同橘园土壤中尿素水解过程的影响

尿素施入土壤后可在脲酶的作用下迅速水解成铵态氮。从表3中可看出，在不施用除草剂的情况下，随着种植年限的增加土壤中尿素态氮的水解速度显著增快，30年橘园土壤的尿素水解能力最强，10年橘园土壤次之，林地土壤最弱。第1 d时，土壤中的尿素态氮含量以30年橘园最低，仅为98.30 mg·kg^{-1}，林地最高，为191.77 mg·kg^{-1}。第8 d时，30年橘园土壤中的尿素已基本水解完毕；林地和10年橘园土壤中的尿素直到培养第12 d才基本水解完全。

除草剂的施用对尿素的水解速率有一定影响。林地施用草甘膦和丁草胺处理土壤尿素态氮在培养第1 d时分别比T0-1处理降低了11.20%和12.43%，表明草甘膦和丁草胺显著促进了林地土壤中尿素的水解过程(P<0.05)。而在两种橘园土壤中，施用除草剂的处理在整个培养过程中其尿素态氮含量和不施用除草剂的处理基本上无差异，表明草甘膦和丁草胺在10 mg·kg^{-1}用量下对橘园土壤的尿素水解过程没有明显影响。

表3 除草剂对不同种植年限橘园土壤尿素态氮含量的影响

Table 3 Effects of herbicide on urea content in different planting years orchard soil mg·kg^{-1}

处理 Treatment	1d	3d	5d	8d	12d	18d
T0-1	191.77a	114.67a	73.99abc	37.73ab	4.55ab	4.28a

T0-2	170.30b	117.02a	66.93c	37.77ab	4.12b	4.53a
T0-3	167.93b	116.98a	70.02bc	38.48ab	5.11ab	3.56ab
T10-1	143.52c	119.40a	74.36ab	42.98a	4.81ab	3.36ab
T10-2	149.09c	121.44a	76.22a	35.11b	5.50ab	3.71ab
T10-3	147.50c	117.45a	79.31a	35.77b	5.73ab	3.67ab
T30-1	98.30d	59.47b	10.44d	4.63c	5.74ab	3.82ab
T30-2	108.58d	51.04b	9.66d	6.80c	6.07a	2.54b
T30-3	107.82d	46.10b	9.53d	3.33c	5.66ab	3.82ab

同列不同字母代表不同处理间差异达显著水平(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column show significant differences at different treatments (P < 0.05).

2.2 除草剂对不同橘园土壤中铵态氮动态变化的影响

在培养前期，由于尿素水解转化成铵态氮，土壤铵态氮含量随培养时间增加不断升高(表4)。其中30年橘园土壤的铵态氮含量在第5 d时达到最大值(233.45 mg kg^{-1}土)，而林地土壤和10年柑橘园土壤中的铵态氮则是在培养的第12 d时达到最大值(227.22和184.18 mg kg^{-1})，和土壤中尿素态氮的水解过程相一致。此后随着培养时间的延长，橘园土壤中的铵态氮逐渐经硝化作用转化为硝态氮，其中30年橘园土壤中铵态氮的减少速度明显要快于10年橘园土壤；而林地土壤中的铵态氮含量则无显著变化。

从图3中还可以看出，林地土壤在培养第1 d时，草甘膦和丁草胺处理的土壤中铵态氮含量显著高于不施用除草剂的处理(P<0.05)；之后，施用除草剂的处理其铵态氮含量和不施用除草剂的处理无差异。而对于10年和30年柑橘园土壤来说，整个培养期内施用除草剂的处理其铵态氮含量和不施用除草剂的处理均无差异，说明除草剂对橘园土壤的铵态氮含量没有明显影响。

表 4 除草剂对不同种植年限橘园土壤铵态氮含量的影响(mg·kg^{-1})

Table 4 Effects of herbicide on NH_4^+-N content in different planting years orchard soil(mg·kg^{-1})

处理 Treatment	1d	3d	5d	8d	12d	18d	24d	33d
T0-1	61.27 c	146.25 b	209.70 c	227.22 a	262.29 a	251.78 a	255.22 a	259.83 a
T0-2	73.60 b	140.29 b	210.63 c	227.23 a	256.52 a	254.99 a	246.79 ab	252.73 a
T0-3	72.50 b	137.20 b	215.44 c	225.97 a	252.69 a	252.04 a	240.51 b	251.67 a
T10-1	65.14 c	109.26 c	173.95 d	184.18 b	209.43 b	170.33 b	126.59 c	63.51 b
T10-2	60.68 c	103.46 c	172.13 d	187.05 b	207.98 b	170.00 b	130.50 c	62.61 b
T10-3	61.77 c	108.61 c	176.07 d	199.09 b	205.83 b	157.54 c	117.29 d	66.49 b
T30-1	84.67 a	177.74 a	233.45 a	181.04 b	164.90 c	110.81 d	63.56 e	16.12 c
T30-2	83.34 a	169.04 a	226.86 ab	185.79 b	170.38 c	110.00 d	55.38 e	31.29 c
T30-3	84.35 a	174.89 a	218.51 bc	178.63 b	161.75 c	111.30 d	56.05 e	20.63 c

同列不同字母代表不同处理间差异达显著水平(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column show significant differences at different treatments (P < 0.05).

2.3 除草剂对不同橘园土壤硝化作用的影响

在整个培养期内，林地土壤中的硝化作用一直处在一个较低的水平(表5)，培养33天时氮肥的硝化率仅为3.68%。而10年和30年橘园土壤中氮肥的硝化速率均随着培养时间的延长升高。从培养的第12d起，30年橘园土壤中的氮肥硝化率一直显著高于10年橘园土壤(P<0.05)，培养结束时，10年和30年橘园土壤中氮肥的硝化率分别为92.33%和98.20%。

从除草剂对土壤硝化作用的影响来看，整个培养期内，除了10年柑橘园土壤在培养第3d时，施用除草剂处理的氮肥硝化率显著低于不施用除草剂的处理外，同一土壤中施用除草剂的处理其氮肥的硝化率和不施用除草剂的处理基本上无差异。因此，草甘膦和丁草胺的施用对3 种土壤氮肥的硝化过程没有明显的影响。

表 5 除草剂对不同种植年限橘园土壤硝化率的影响(%)

Table 5 Effects of herbicide on nitrification rate in different planting years orchard soil(%)

处理 Treatment	1d	3d	5d	8d	12d	18d	24d	33d
T0-1	1.47 b	1.04 d	1.25 b	1.84 d	1.70 c	2.04 c	1.01 d	3.68 c
T0-2	0.58 b	0.69 d	1.20 b	1.66 d	1.56 c	1.94 c	1.03 d	3.39 c
T0-3	0.66 b	1.21 d	1.48 b	1.52 d	1.45 c	2.43 c	1.40 d	3.66 c
T10-1	3.40 a	10.32 a	10.90 a	18.64 bc	27.06 b	45.31 b	64.79 c	92.33 ab

T10-2	4.56 a	7.63 b	11.28 a	21.50 a	26.55 b	48.26 b	62.16 c	94.07 ab
T10-3	4.36 a	7.94 b	11.95 a	17.72 c	27.16 b	47.96 b	64.82 c	85.57 b
T30-1	0.20 b	6.24 c	8.79 a	21.24 ab	31.96 a	58.33 a	74.53 b	98.20 a
T30-2	0.86 b	5.75 c	8.93 a	19.29 abc	30.47 a	58.74 a	82.51 a	95.36 a
T30-3	0.58 b	5.58 c	9.60 a	20.07 abc	31.90 a	57.43 a	79.91 a	99.85 a

同列不同字母代表不同处理间差异达显著水平(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column show significant differences at different treatments (P < 0.05).

2.4 乙草胺对土壤氮素反硝化损失的影响

从表6中可以看出和硝化过程类似，林地土壤的反硝化速率一直处在一个很低的水平。30年柑橘园土壤的反硝化损失速率则和土壤中肥料氮的硝化率相似，随着培养时间的延长而逐渐升高。10年柑橘园土壤在培养的第3 d出现了一个反硝化损失的高峰期，之后该土壤中的反硝化速率逐渐降低，到第8d降至最低，之后又随着培养时间的延长而逐渐升高，这可能是因为10年柑橘园土壤中的初始的硝态氮含量比较高导致。从土壤氮素反硝化损失总量(表2)来看，耕种显著提高了土壤氮素的反硝化损失量，10年和30年柑橘园分别比林地土壤增加了5.12和4.30倍，但两种柑橘园土壤的反硝化损失总量无显著差异。

整个培养期内，同一种土壤施用丁草胺和草甘膦的处理其反硝化损失总量(表7)和不施用除草剂的对照处理基本无差异。因此，在本试验用量下，除草剂丁草胺和草甘膦对不同种植年限柑橘园土壤的反硝化过程没有明显影响。

表 6 除草剂对不同种植年限橘园土壤反硝化损失的影响($\mu gN\cdot kg^{-1}\cdot h^{-1}$)

Table 6 Effects of herbicide on temporary changes of denitrification in different planting years orchard soil($\mu gN\cdot kg^{-1}\cdot h^{-1}$)

处理 Treatment	3d	5d	8d	12d	18d	24d	33d
T0-1	0.04 b	0.04 b	0.05 a	0.05 b	0.05 c	0.04 b	0.04 b
T0-2	0.04 b	0.04 b	0.05 a	0.05 b	0.04 c	0.04 b	0.05 b
T0-3	0.04 b	0.05 b	0.05 a	0.05 b	0.04 c	0.05 b	0.05 b
T10-1	0.38 a	0.21 a	0.08 a	0.22 ab	0.31 a	0.18 a	0.62 a
T10-2	0.38 a	0.12 ab	0.09 a	0.27 ab	0.19 ab	0.19 a	0.69 a
T10-3	0.47 a	0.21 a	0.11 a	0.40 a	0.17 b	0.32 a	0.63 a
T30-1	0.10 b	0.14 ab	0.11 a	0.17 ab	0.23 ab	0.27 a	0.66 a
T30-2	0.11 b	0.11 ab	0.11 a	0.10 b	0.25 ab	0.20 a	1.05 a
T30-3	0.09 b	0.17 ab	0.11 a	0.13 b	0.27 ab	0.27 a	0.73 a

同列不同字母代表不同处理间差异达显著水平(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column show significant differences at different treatments (P < 0.05).

表 7 尿素氮肥反硝化作用损失总量

Table 7 Loss amount of urea nitrogen by denitrification $\mu g(N)\cdot kg^{-1}$

橘园种植年限 Planting years of citrus orchard (a)	不施除草剂 No herbicide	草甘膦 glyphosate	丁草胺 butachlor
0 (林地 Woodland)	35.54±0.97b(a)	34.29±2.31b(a)	35.56±0.76b(a)
10	217.46±62.86a(a)	209.95±21.54a(a)	253.20±55.91a(a)
30	188.44±43.74a(a)	208.59±72.09a(a)	196.82±24.20ea(a)

括号内同行不同字母代表相同土壤施用不同除草剂后差异达显著水平(P<0.05)；括号外同列不同字母代表不同年限柑橘园土壤间差异达显著水平(P<0.05)。Different lowercase letters in brackets in the same line indicate significant differences among the same soil with different herbicide treatments (P < 0.05). Different lowercase letters out of brackets in the same column show significant differences at different planting years soil (P < 0.05).

2.5 除草剂对不同种植年限土壤温室气体排放的影响

耕种显著提高了土壤中N_2O的排放量, 10年和30年橘园土壤分别比林地土壤提高了7.80和2.74倍(表3)。究其原因在于土壤中的N_2O排放主要是由硝化和反硝化过程产生的，而本研究发现耕种明显提高了土壤的硝化和反硝化活性。在本试验条件下, 10年柑橘园土壤的N_2O排放量明显高于30年柑橘园土壤，这可能和该土壤中初始的硝态氮含量较高有关。3种土壤施用草甘膦后的N_2O排放总量和未施用除草剂的处理无差异。施用丁草胺明显增加了耕种柑橘园土壤的N_2O排放总量, T10-3和T30-3处理的N_2O排放总量分别为507.81和255.77 $\mu g(N)\cdot kg^{-1}$，分别比T10-1和T30-1处理增加了56.27%和85.41%，但对林地土壤的N_2O排放总量没有明显影响，这可能和林地土壤的硝化和反硝化活性均较弱有关。

柑橘园土壤的CO_2排放总量随着种植年限的延长而显著增加(P<0.05)。对于林地土壤来说，施用丁草胺显著降低了CO_2排放总量, T0-3处理CO_2排放总量比T0-1处理减少了19.73%。而对于10年和30年柑橘园土壤来说，在整个培养过程中，除草剂丁草胺和草甘膦处理的CO_2排放速率均和不施除草剂处理无差异(表3)。因

此，除草剂对柑橘园土壤的CO_2排放的影响不显著。

表 8　除草剂对不同种植年限柑橘园土壤中 N_2O 和 CO_2 排放总量的影响

Table 8　Effects of herbicides on total N_2O and CO_2 emission from different planting year orchard soil

橘园种植年限 Planting years of citrus orchard (a)Treatment	N_2O排放总量 Total N_2O emission [μg(N)·kg^{-1}]			CO_2排放总量 Total CO_2 emission [mg(CO_2)·kg^{-1}]		
	不施除草剂 No herbicide	草甘膦 glyphosate	丁草胺 butachlor	不施除草剂 No herbicide	草甘膦 glyphosate	丁草胺 butachlor
0 (林地 Woodland)	36.92±2.16c(a)	36.19±1.03c(a)	35.92±0.82c(a)	537.14±55.63 c(a)	515.78±31.66 c(a)	427.64±40.12 c(b)
10	324.96±77.57a(b)	340.52±84.83a(b)	507.81±69.02a(a)	637.25±28.41 b(a)	608.54±86.67 b(a)	603.39±50.91 b(a)
30	137.95±24.71b(b)	176.27±51.91b(b)	255.77±28.99b(a)	743.91±50.11 a(a)	814.52±79.58 a(a)	789.73±58.98 a(a)

括号内同行不同字母代表相同土壤施用不同除草剂后差异达显著水平(P<0.05)；括号外同列不同字母代表不同年限柑橘园土壤间差异达显著水平(P<0.05)。Different lowercase letters in brackets in the same line indicate significant differences among the same soil with different herbicide treatments (P < 0.05). Different lowercase letters out of brackets in the same column show significant differences at different planting years soil (P < 0.05).

3　讨论

3.1　除草剂对不同种植年限柑橘园土壤氮转化过程的影响

施用除草剂会影响土壤中脲酶的活性，进而对土壤中尿素水解过程产生影响。Gianfreda [16]和呼蕾[17]的试验结果一致认为草甘膦在不同土壤上总体上表现出激活土壤脲酶活性，但增幅随土样有所差异。彭星等[18]的研究也发现丁草胺在0~209 mg·kg^{-1}的浓度范围内，对土壤脲酶均有不同程度的激活作用；而徐蒋来[19]在稻田中的研究发现低浓度丁草胺对脲酶活性影响不明显。本研究表明，草甘膦和丁草胺在培养的第1d均显著促进了林地土壤中尿素的水解过程(P<0.05)，也证实了除草剂草甘膦和丁草胺在培养的前期对脲酶的活性都有一定的激活作用。然而，本试验发现，在10年和30年柑橘园土壤中，除草剂对尿素的水解过程没有明显的影响。这可能跟柑橘园种植过程中土壤有机质含量显著提高pH值显著降低等因素有关，10年和30年柑橘园土壤的有机质含量分别是林地土壤的3倍和6倍，pH值分别比林地土壤降低了1.3和1.2。有研究表明，土壤有机质含量对土壤处理除草剂活性影响较为普遍，所有供试药剂的除草活性均与其具有负相关趋势[20]。同时，呼蕾[17]和王玉军[21]等的研究还发现，土壤pH越低，草甘膦的吸附量越多，游离草甘膦量越少，所以对土壤酶的影响会较小。

对于土壤氮素的硝化过程而言，Kara 等[22]的研究结果表明，施用除草剂特丁津能够抑制酸性和中性土壤中硝化微生物的活性，降低土壤中硝态氮的含量；但在碱性土壤中却表现出刺激硝化微生物活性的作用。Gigliotti 等[23]发现，苄嘧磺隆和醚磺隆在田间用量和100倍用量时对土壤中的细菌、硝化细菌数及土壤呼吸作用均没有影响，但降低了土壤的硝化活性。笔者[7]在菜地土壤上的研究结果也发现，草甘膦和丁草胺在培养的前2d也显著降低了土壤中硝态氮含量，在培养前期显著抑制了土壤的硝化活性。总之，多数研究均表明，除草剂对土壤氮素的硝化有一定的抑制作用[24-25]。但Martens 等[26]研究18种除草剂对土壤中尿素态氮转化过程的影响结果表明，除草剂对土壤中尿素氮硝化作用的抑制作用随土壤有机质含量的减少而增加。而在本试验的条件下，正常用量的草甘膦和丁草胺不会对柑橘园土壤的氮素转化过程产生不利的影响，这可能跟柑橘园种植过程中土壤有机质含量显著提高且该土壤的硝化过程较慢有关，但相关的响应机制还需要结合除草剂对氮转化关键微生物的数量和活性的影响进行进一步深入的研究。

3.2　除草剂对不同种植年限柑橘园土壤温室气体排放的影响

不少研究表明，除草剂对土壤中微生物活性和碳氮形态变化的作用效果可能有别，从而导致对土壤温室气体排放的作用效果也不尽相同，这不仅与除草剂本身的类型和用量有关，也和土壤的性质(pH、有机质、容重、质地和含水量等)有关。本试验结果中表现出2种除草剂效应上存在一定差异，且在不同耕种时间长短上的影响效应也不相一致。

土壤中的N_2O排放主要来源于硝化和反硝化过程。Kinney等[27]和Das[28]的研究结果发现除草剂氟磺隆、苄嘧磺隆和丙草胺都抑制了土壤中N_2O的产生。本研究中，林地土壤的硝化和反硝化活性均很低，N_2O的排放量也很低，因此除草剂对之没有明显影响。Stratton等[29]研究草甘膦对新开垦酸性森林土壤N_2O的排放的影响也得到了相同的结果。而柑橘园土壤中的有机质、全氮和硝态氮含量大幅度提升，为硝化和反硝化过程提供了充足的底物，N_2O的排放量大幅度增加。本研究中草甘膦对开垦后柑橘园N_2O的排放没有明显影响，但丁草胺显著增加了土壤中的N_2O排放。这和笔者在菜田土壤上的研究结果[8]不相同。这可能和菜田土壤属于中性土壤，而柑橘园土壤为酸性土壤有关，有研究指出随着土壤pH降低，草甘膦的吸附量越多，所以

对土壤N_2O排放过程的影响会较小[21]。

现有的研究结果表明，除草剂对土壤呼吸的影响不尽相同。陶波[30]发现随着草甘膦浓度的加大，对土壤呼吸的抑制作用增强；孙青[31]等通过室内土壤培养试验，发现在添加尿素的条件下，莠去津、百草枯和乙草胺对土壤呼吸无显著影响，草甘膦显著抑制了土壤呼吸，苯磺隆则显著促进了土壤呼吸。而本研究中草甘膦和丁草胺对柑橘园土壤CO_2的排放均没有明显影响。这可能和供试土壤不同有关。呼蕾等[32]的研究发现，在不同pH值的土壤中草甘膦对土壤微生物碳氮的影响效果不同，碱性土壤显示出一定的抑制作用，而在酸性土壤中则表现出刺激作用。因此即使是同一种除草剂，在不同土壤中对温室气体排放的影响也不尽相同。特别是在不同的农作措施往往造成土壤理化性质朝着不同的方向发生改变，有必要针对长期人为定向培育的土壤中施用除草剂对土壤碳氮转化过程的影响开展进一步深入的研究。

4 结论

随着林地开垦成为柑橘园，土壤中尿素的水解以及氮肥的硝化速率明显加快。和林地土壤相比，10 年和 30 年柑橘园土壤的反硝化损失总量增加了 5.12 和 4.30 倍(P<0.05)，N_2O 排放总量增加了 7.80 和 2.74 倍(P<0.05), CO_2 排放总量增加了 19.62%和 39.64%(P<0.05)。

随着种植年限的增加，土壤中尿素的水解以及氮肥的硝化速率明显加快。和 10 年橘园相比, 30 年柑橘园 CO_2 的排放总量增加了 16.74%(P<0.05)但两种柑橘园土壤中的反硝化损失量无差异。

草甘膦和丁草胺显著促进了林地土壤中尿素的水解(P<0.05)，第 1d 时土壤中的尿素含量分别比不施用除草剂的处理降低了 11.20%和 12.43%；而对柑橘园土壤的尿素水解过程和氮肥的硝化过程没有明显影响，整个培养期内和不施用除草剂的处理基本无差异。

草甘膦对三种土壤的反硝化损失、N_2O 和 CO_2 排放均无影响；丁草胺对三种土壤的反硝化损失以及林地土壤的 N_2O 排放无影响，但显著降低了林地土壤中 CO_2 的排放量(P<0.05)，增加了柑橘园土壤中 N_2O 的排放总量(P<0.05)。

参考文献 Reference

[1]张泽溥. 我国农田杂草治理技术的发展[J]. 植物保护, 2004, 30(2):28-33
Zhang Z B. Advances in cropland weed management in China[J]. Plant Protection, 2004, 30(2):28-33
[2] Alka, SINGH, Mahesh, et al. Microbial biomass dynamics in a tropical agroecosystem: Influence of herbicide and soil amendments[J]. Pedosphere, 2016, 26(2):257-264
[3]孙约兵, 王润珑, 徐应明,等. 除草剂硝磺草酮对土壤微生物生态效应研究[J]. 中国环境科学, 2016, 36(1):190-196.
Sun Y B, Wang R L, Xu Y M, et al. Ecological effects of herbicide mesotrione on soil microbial communities[J]. China Environmental Science, 2016, 36(1):190-196
[4]Parida C S, Mondal S, Siddiqui M Z. Effect of urea, vermicompost and pendimethalin on nitrogen transformation in lateritic soil[J]. Progressive Agriculture, 2010, 10(2): 252-255.
[5]Tu C M. Effect of selected herbicides on activities of microorganisms in soils [J]. Journal of Environmental Science & Health Part B, 1996, 31(6):1201-1214
[6] 张晶, 陈秋初, 关丽萍, 等. 甲嘧磺隆和炔草酯对土壤微生物呼吸强度和氮转化的影响[J]. 农药学学报, 2017, 19(2):203-210
Zhang J, Chen C Q, Guan L P, et al. Effects of sulformeturon methyl and clodinafop-propargyl on respiration intensity and nitrogen transformations of soil microorganisms[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2017, 19(2):203-210
[7]丁洪, 郑祥洲, 雷俊杰, 等. 除草剂对尿素氮在土壤中转化的影响[J]. 生态环境学报, 2012, 21(3): 551-554
Ding H, Zheng X Z, Lei J J, et al. Effects of herbicides on transformation of urea nitrogen in vegetable plantation soil [J]. Ecology and Environmental Science, 2012, 21(3): 551-554
[8]丁洪, 郑祥洲, 雷俊杰,等. 除草剂对土壤温室气体排放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(2):435-439
Ding H, Zheng X Z, Lei J J, et al. Effects of Herbicides on Greenhouse Gases Emission from Vegetable Plantation Soil [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2012, 31(2):435-439
[9] 丁洪, 张玉树, 郑祥洲. 除草剂对土壤氮素循环的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 20(4):767-772
Ding H, Zhang Y S, Zheng X Z. Review on the effect of herbicides on soil nitrogen cycle [J]. Ecology and Environmental Science, 2011, 20(4):767-772
[10] 中国统计年鉴[M]. 中国统计出版社, 2016.
China Statistical Yearbook[M]. China Statistics Press, 2016.

[11] 石宗琳，王加旭，梁化学，等．渭北不同园龄苹果园土壤团聚体状况及演变趋势研究[J]．土壤学报, 2017, 54(2):387-399
Shi Z L, Wang J X, Liang H X, et al. Status and evolution of soil aggregates in apple orchards different in age in weibei[J]. Acta Pedologica Sinica, 2017, 54(2):387-399
[12] 李英，韩红艳，王文娟,等．黄淮海平原不同土地利用方式对土壤有机碳及微生物呼吸的影响[J]．生态环境学报, 2017, 26(1):62-66
Li Y, Han H Y, Wang W J, et al. Effects of different land use types on soil organic carbon and microbial respiration in Huang-Huai-Hai plain [J]. Ecology and Environmental Science, 2017, 26(1):62-66
[13]Müller C, Sherlock R R, Williams P H. Field method to determine N2O emission from nitrification and denitrification[J]. Biology & Fertility of Soils, 1998, 28(1):51-55
[14]Mulvaney R. L., Bremner J. M.. A modified diacetyl monoxime method for colorimetric determination of urea in soil extracts1[J]. Communications in Soil Science & Plant Analysis, 1979, 10(8):1163-1170
[15] 鲁如坤．土壤农业化学分析方法[M]．北京：中国农业科技出版社, 2000: 150-160
Lu R K. Analysis methods of soil agricultural chemistry[M]. Beijing: Chinese Agricultural Science and Technology Press, 2000, P150-160.
[16]Gianfreda L, Sannino F, Pesticide influence on soil enzymatic activities[J]. Chemosphere, 2001, 45: 417-425
[17]呼蕾，和文祥，王旭东,等．草甘膦的土壤酶效应研究[J]．农业环境科学学报, 2009, 28(4):680-685
Hu L, He W X, Wang X D, et al. Effect of glyphosate on soil enzyme[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2009, 28(4):680-685
[18]彭星，刘嫦娥，段昌群,等．四种除草剂对土壤脲酶活性的影响研究[J]．现代农药, 2009, 8(6):31-36.
Peng X, Liu C E, Duan C Q, et al. Effect of four herbicides on urease activity in soil[J]. Modern Agrochemicals, 2009, 8(6):31-36
[19] 徐蒋来，胡乃娟，张政文,等．两种除草剂对稻田土壤微生物数量和酶活性的影响[J]．水土保持通报, 2015, 35(4):168-171
Xu J L, Hu N J, Zhang Z W, et al. Effects of two herbicides on soil microbes and enzyme activities in a paddy field[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2015, 35(4):168-171
[20]徐小燕，唐伟，陈杰,等．土壤处理除草剂在不同类型土壤中除草活性研究[J]．浙江农业学报, 2013, 25(4):823-826
Xu X Y, Tan W, Chen J, et al. Herbicidal activity of soil treatment herbicides in different types of soils[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2013, 25(4):823-826
[21]王玉军，周东美，孙瑞娟,等．除草剂草甘膦在几种土壤和矿物上的吸附研究[J]．土壤学报, 2006, 43(5):780-785
Wang Y J, Zhou D M, Sun R J, et al. Adsorption of Glyphosate on Soil and Minerals[J]. Acta Pedologica Sinica, 2006, 43(5):780-785
[22]Kara E E, Arli M, Uygur V. Effects of the herbicide Topogard on soil respiration, nitrification, and denitrification in potato-cultivated soils differing in pH[J]. Biology & Fertility of Soils, 2004, 39(6):474-478
[23]Gigliotti C, Allievi L. Differential effects of the herbicides bensulfuron and cinosulfuron on soil microorganisms[J]. Journal of Environmental Science & Health.part.b Pesticides Food Contaminants & Agricultural Wastes, 2001, 36(6):775-82
[24] Kim J E, Hong J U. Effects of herbicides on enzyme activities in soil environment [J]. Journal Korean Agricultural Chemistry Society, 1988, 31(1):79-85
[25]Csitári G, Debreczeni K, Sisák I. Effect of herbicides on the urea transformation in soil[M]// Progress in Nitrogen Cycling Studies. Springer Netherlands, 1996:191-194
[26]Martens D A, Bremner J M. Effects of preemergence and postemergence herbicides on urea hydrolysis and nitrification of urea nitrogen in soil[J]. Biology & Fertility of Soils, 1994, 17(4):309-313
[27]Kinney C A, Mandemack K W, Mosier A R. Laboratory investigations into the effects of the pesticides mancozeb, chlorothalonil, and prosulfuron on nitrous oxide and nitric oxide production in fertilized soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(5): 837-850
[28]Das S, Ghosh A, Adhya T K. Nitrous oxide and methane emission from a flooded rice field as influenced by separate and combined application of herbicides bensulfiiron methyl and pretilachlor[J]. Chemosphere, 2011,84(1): 54-62
[29]Stratton G W, Stewart K E. Effects of the herbicide glyphosate on nitrogen cycling in an acid forest soil[J]. Water Air & Soil Pollution, 1991, 60(3-4):231-247
[30]陶波，蒋凌雪，沈晓峰,等．草甘膦对土壤微生物的影响[J]．中国油料作物学报, 2011, 33(2):162-168
Tao B, Jiang L X, Shen X F, et al. Effects of glyphosate on soil microorganisms[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(2):162-168
[31]孙青，史淳星，石坤,等．添加不同 N 源条件下典型除草剂对土壤呼吸和 N_2O 排放的影响[J]．环境科学，2012, 33(6):1994-1999
Sun Q, Shi C X, Shi K, et al. Effects of Typical Herbicides on Soil Respiration and N2O Emissions from Soil Added with Different

Nitrogen Fertilizers[J].Chinese Journal of Environmental Science, 2012, 33(6):1994-1999
[32]呼蕾，和文祥，高亚军．草甘膦对土壤微生物量及呼吸强度的影响[J]．西北农业学报, 2010, 19(7):168-172
Hu L, He W X, Gao Y J, et al. Effect of Glyphosate on Soil Microbial Biomass and Respiration [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2010, 19(7):168-172